

CONTRIBUTION A LA CHIMIE TAXONOMIQUE DE 57 ESPÈCES DE LÉGUMINEUSES

ÉTUDES QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES PROTÉINES DE LEURS GRAINES. TRAITEMENT INFORMATIQUE DES DONNÉES

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences, mention biologique

par

MARIE-THÉRÈSE MISSET

d'Annemasse
France

Texte condensé de la thèse n° 1833 approuvée par la Faculté des sciences. Des copies en microfilms du texte complet peuvent être obtenues auprès de la Bibliothèque publique et universitaire de Genève. Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque ou à la Bibliothèque nationale à Berne.

Thèse n° 1833

GENÈVE
Société botanique de Genève
1977

CONTRIBUTION A LA CHIMIE TAXONOMIQUE DE 57 ESPÈCES
DE LÉGUMINEUSES

ÉTUDES QUALITATIVE ET QUANTITATIVE DES PROTÉINES DE
LEURS GRAINES. TRAITEMENT INFORMATIQUE DES DONNÉES

THÈSE

présentée à la Faculté des sciences de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur ès sciences, mention biologique

par

MARIE-THÉRÈSE MISSET

d'Annemasse
France

Texte condensé de la thèse n° 1833 approuvée par la Faculté des sciences. Des copies en microfilms du texte complet peuvent être obtenues auprès de la Bibliothèque publique et universitaire de Genève. Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque ou à la Bibliothèque nationale à Berne.

Thèse n° 1833

GENÈVE
Société botanique de Genève
1977



La Faculté des sciences, sur le préavis de Messieurs J. Miège, professeur ordinaire et directeur de thèse, C. Favarger, professeur (Université de Neuchâtel) et Madame N. Miège, chargée de cours (Dép. de biologie végétale — Genève) autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 21 septembre 1977
Thèse n° 1833

Le Doyen:
Bernard Levrat



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Les recherches présentées dans ce travail ont été effectuées sous la direction du Professeur J. Miège au Département de biologie végétale (Laboratoire de chimie taxonomique) de l'Université de Genève.

Je remercie Monsieur et Madame Miège pour leur accueil dans leur équipe de chercheurs, et leur intérêt pour ce travail à travers lequel j'ai pu aborder certains problèmes biologiques et taxonomiques.

Je tiens à remercier le Professeur Favarger de l'Université de Neuchâtel pour ses critiques constructives de ce travail.

Mes remerciements vont également à:

- J.-M. Mascherpa pour sa collaboration précieuse quant au traitement informatique des données.
- Monsieur L. Larderaz du Jardin botanique de Genève qui fut mon maître sur le terrain.
- Tous mes amis pour leur aide et leur soutien moral.

Introduction

Depuis plusieurs dizaines d'années de nombreux laboratoires ont orienté leurs recherches vers la chimie taxonomique, utilisant comme matériel de base des métabolites secondaires (flavonoïdes, terpènes ou autres petites molécules) ou des macromolécules (acides nucléiques et protéines). Dans cette dernière catégorie, les protéines sont les plus utilisées car elles représentent un matériel relativement abondant et d'extraction facile. De plus, étant au centre du métabolisme primaire, elles sont le reflet fidèle du génôme, et peuvent donc servir à des travaux taxonomiques comme l'a montré J. MIÈGE (1975a).

Si la chimie taxonomique est maintenant répandue, elle reste suspecte aux yeux de bien des botanistes qui reprochent aux biochimistes d'intervenir dans un domaine qu'ils ne connaissent pas ou mal. Il est certain que l'alliance des deux disciplines biochimie et taxonomie n'est pas chose aisée car il est rare qu'un même individu soit compétent dans ces deux disciplines. C'est pourquoi il est souhaitable qu'une collaboration s'établisse entre les spécialistes de ces deux branches afin de donner de meilleurs résultats.

Pour pallier à ces difficultés et à ces critiques, le chimiotaxonomiste doit prendre de multiples précautions, tant du point de vue méthodes d'analyses que du point de vue détermination et échantillonnage des plantes. SMITH (1976) propose 6 principales étapes à respecter dans tout le travail chimiotaxonomique:

- choix d'un groupe, étude systématique de ce groupe et échantillonnage correct;
- choix, maîtrise et modifications de techniques chimiques appropriées;
- analyse complète du matériel;
- interprétation et comparaison des résultats avec ceux de la littérature;
- ajustements de classification si nécessaire;
- traitement des relations évolutives entre taxons, d'après les nouvelles données.

Nous avons essayé de suivre le mieux possible ce plan sans toutefois aborder le dernier point.

Le choix du groupe s'est porté tout naturellement sur les Légumineuses et plus particulièrement sur la sous-famille des *Faboideae* puisque les recherches poursuivies dans notre laboratoire sont en majorité basées sur ce taxon. D'autre part, les *Faboideae* sont riches en protéines, en contenant 17 à 25% et même jusqu'à 50% chez les espèces cultivées contre 6 à 14% chez les Céréales. Plusieurs raisons ont guidé le choix de la graine comme source de protéines:

- la graine est un organisme complet, autonome dès la fin de sa maturation, vivant alors au ralenti, peu sensible aux influences extérieures car protégée du milieu ambiant par des téguments imperméables, parfois très épais;
- de par sa forme et sa consistance, la graine est un matériel peu fragile et facilement stockable. A ce sujet, GRANGE (1976) a étudié le vieillissement des graines stockées dans des conditions différentes d'humidité et de température pendant plusieurs années. De ses travaux, il ressort que la meilleure façon de conserver les graines est de les maintenir à 4°C. Toutes les graines utilisées ici ont donc été stockées en chambre froide après avoir été récoltées, séchées et triées;
- enfin les graines présentent un intérêt taxonomique certain comme l'ont montré plusieurs chercheurs, entre autres KLOZ & al. (1960). Ils ont comparé les diagrammes électrophorétiques des feuilles, tiges et hypocotyles de plusieurs plants de haricot. Ces diagrammes varient non seulement entre les plants mais à l'intérieur d'un même plant, selon son âge. Les mêmes expériences faites sur des cotylédons ont donné des diagrammes stables à l'intérieur d'un même taxon.

Quant au choix des espèces étudiées (fig. 9), il a été guidé par les ressources naturelles de la région. La plupart des espèces sauvages viennent du Valais où les stations sont abondantes (*Oxytropis*, *Ononis* et *Astragalus*). D'autres espèces proviennent du Jardin botanique de Genève (*Genisteae* surtout) et de stations expérimentales, Versailles pour les *Trifolieae* et Gembloux (Belgique) pour les *Phaseoleae*. Pour ce qui est de l'échantillonnage, WOOLFE & HAMBLIN (1974) ont fait des études comparatives sur la teneur en protéines des graines de haricot provenant d'une même gousse, des graines provenant de gousses différentes sur un même plant et de plants différents. Ils ont observé les plus fortes variations de la teneur en protéines entre les gousses inférieures et supérieures d'une même plante, ces

dernières étant les moins riches en protéines. Ils préconisent de récolter au moins 10 graines sur des plants différents pour que l'échantillon soit représentatif d'une population.

Or nous avons souvent récolté le maximum de gousses mûres dans chaque population afin d'avoir assez de graines pour les expériences en laboratoire. Le problème de la représentativité ne se pose donc pas.

Quant aux méthodes d'extraction, elles ont été mises au point par M.-N. MIÈGE (1970) sur *Lablab* et sur *Phaseolus* (MIÈGE, M.-N. 1975) afin d'obtenir des résultats reproductibles, un % maximum d'azote extrait et une meilleure séparation des albumines et des globulines au cours de la dialyse.

On appelle albumines et globulines des protéines caractérisées par des propriétés de solubilité différentes. Les albumines sont solubles dans l'eau pure et les solutions salines, les globulines ne sont solubles que dans les solutions salines. Au cours des expériences quantitatives, nous avons utilisé un troisième type de protéine, les glutélines, solubles dans NaOH 0.1 N. Au point de vue fonctions, les albumines représentent principalement les protéines à fonctions enzymatiques. Les globulines regroupent des protéines de réserve localisées dans les corps protéiques et les glutélines auraient une fonction de structure.

Le travail se compose de deux parties principales.

Une étude quantitative

Albumines, globulines et glutélines sont extraites de façon exhaustive puis dialysées 64 heures contre de l'eau pour éliminer les petites molécules et séparer albumines et globulines; les albumines restant en solution dans l'eau, les globulines précipitant au fond du sac à dialyse. Albumines, globulines et glutélines sont ensuite mises à sécher à 120°C, pesées, puis réduites en poudre à partir de laquelle on dosera l'azote contenu dans ces trois types de protéines. Ces manipulations permettent de calculer la teneur en azote des albumines, globulines et glutélines de chaque espèce de même que celle de la farine de départ.

Une étude qualitative

Les albumines et globulines, après extraction et dialyse, sont lyophilisées, ce qui permet de les conserver sans altération à température ambiante dans une atmosphère sèche. On fait ensuite migrer ces protéines à travers un gel d'agarose tamponnée, coulé sur des lames de verre. Après migration, les lames sont diversément colorées selon que l'on veut révéler la totalité des protéines ou des enzymes particulières. Outre la coloration au noir amide, globale, nous avons choisi de révéler les peroxydases, les estérases et les phosphatases acides.

Nous voilà donc en présence d'un matériel stable, bien déterminé, de méthodes au point et de résultats reproductibles. Mais avant d'entreprendre toutes ces manipulations de longue haleine une question se pose: peut-on comparer des espèces différentes provenant de stations différentes? La variabilité due au milieu ne va-t-elle pas interférer avec la variabilité génétique?

Influence du milieu sur les protéinogrammes

En effet, facteurs climatiques et nature du sol peuvent influencer le contenu protéique des graines. La plupart des études menées sur ce sujet concerne des plantes vivrières. GOMEZ & DE DATTA (1975) ont observé chez certaines variétés de riz que la quantité de protéines peut varier de 4.8 à 12.1% en fonction de l'époque de la récolte, de la station de culture, de l'apport d'engrais, de l'irrigation et du sarclage. D'autres études, qualitatives cette fois, ont été faites tant sur les Céréales que sur les Légumineuses. J. MIÈGE (1975b) a constaté que des espèces ivoiriennes et sénégalaises d'*Adansonia* possédaient les mêmes diagrammes albuminiques et globuliniques. COULSON & SIM (1964) travaillant sur 38 variétés de blé ont montré que les diagrammes électrophorétiques sont typiques de chaque variété et ils ont obtenu des diagrammes identiques à partir des mêmes variétés poussant dans des stations différentes. De même, LADIZINSKY & ADLER (1974) n'ont trouvé chez 88 cultivars de *Cicer arietinum* présentant une très grande variabilité morphologique, qu'un seul profil électrophorétique des protéines de leurs graines, profil composé de 7 bandes.

Ces résultats montrent que les protéines subissent des variations quantitatives sous l'influence du milieu mais il semble que la structure de ces protéines reste assez constante.

Voyons ce qui se passe qualitativement pour quelques-unes de nos 57 espèces. Nous avons cherché à connaître les effets des variations climatiques d'une année à l'autre dans une même station, et les variations dues non seulement aux facteurs climatiques mais aussi à la nature du sol dans diverses stations.

Espèces récoltées dans une même station

Espèces	Station	Année de récolte
<i>Genista aetnensis</i> (Biv.) DC.	Jardin botanique (Ge)	1975-1976
<i>Petteria ramentacea</i> (Sieber) C. Presl	Jardin botanique (Ge)	1974-1976
<i>Oxytropis campestris</i> (L.) DC.	Zermatt (Vs)	1975-1976
<i>Oxytropis lapponica</i> (Wahlenb.) J. Gray	Val des Dix (Vs)	1975-1976
<i>Colutea arborescens</i> L.	Sierre (Vs)	1975-1976
<i>Tetragonolobus maritimus</i> (L.) Roth	Zermatt (Vs)	1975-1976

Les extractions ont été faites en 1976; certaines graines ont donc passé 1 à 2 ans en chambre froide.

A part quelques variations quantitatives, on n'observe aucune variation qualitative au niveau des albumines noir amide, estérases et phosphatases. Par contre, il en va tout autrement pour les peroxydases, qui perdent rapidement leur activité enzymatique malgré la conservation à 4°C, ce qui rend ce type d'enzyme inutilisable pour un tel travail. Cela confirme ce que GRANGE (1976) avait observé au cours de ses recherches sur le vieillissement de la graine.

Espèces de provenances diverses

Espèces	Stations
<i>Tetragonolobus maritimus</i> (L.) Roth	Aire-la-Ville, 400 m (Ge)
<i>Astragalus cicer</i> L.	Jardin botanique, 400 m (Ge)
<i>Astragalus cicer</i> L.	Folaterres, 490 m (Vs)
<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.	Bords de l'Aire, 390 m (Ge)
<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.	Val Bavona, 880 m (Ti)
<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.	Ss Brontallo, 640 m (Ti)
<i>Astragalus glycyphyllos</i> L.	St-Jean, 1300 m (Vs)
<i>Vicia sepium</i> L.	St-Jean, 1420 m (Vs)
<i>Vicia sepium</i> L.	Zmutt, 1770 m (Vs)
<i>Vicia onobrychioides</i> L.	Liddes, 1400 m (Vs)
<i>Vicia onobrychioides</i> L.	Zermatt, 1650 m (Vs)
<i>Lathyrus sylvestris</i> L.	Ss Salvan, 900 m (Vs)
<i>Lathyrus sylvestris</i> L.	Ss Brontallo, 560 m (Ti)
<i>Lathyrus sylvestris</i> L.	Bords de l'Aire, 390 m (Ge)
<i>Lathyrus heterophyllus</i> L.	St-Jean, 1420 m (Vs)
<i>Lathyrus heterophyllus</i> L.	Mâche, 1330 m (Vs)

Pour certaines espèces l'altitude est très différente d'une station à l'autre (*Tetragonolobus*, fig. 3, *Astragalus glycyphyllos*, fig. 4). Pour *A. cicer*, c'est la richesse de la couche nutritive qui varie, terre assez riche au Jardin botanique de Genève, sol plus ou moins rocailleux aux Folaterres le long du Rhône. Chez toutes ces espèces on ne remarque que des variations quantitatives malgré les conditions de vie différentes. De même *Vicia sepium* et *V. onobrychioides* ne présentent aucune différence. Chez *Lathyrus* (fig. 5) cependant, on note des différences qualitatives au niveau des estérases et phosphatases acides alors que les diagrammes totaux sont constants. Pour savoir si ces variations sont de nature écologique ou génétique, il aurait fallu les cultiver sous des conditions identiques, ce qui n'a pas été fait faute de temps, mais il serait intéressant de revenir sur ce sujet.

Les protéinogrammes fournissent des données fiables, certaines enzymes étant peu sensibles aux variations d'ordre écologique et à la conservation, à l'exception des peroxydases que nous avons abandonnées par la suite.

Etudes quantitative et qualitative des 57 espèces — Discussion

Etude quantitative

En plus des caractères qualitatifs représentés par les diagrammes électrophorétiques dont nous venons de voir la stabilité, nous avons voulu utiliser certains caractères quantitatifs dont la valeur taxonomique avait été démontrée par SPIERER-ROYER (1975) sur 15 variétés de *Vigna*. Ces caractères quantitatifs sont au nombre de 7: poids secs des albumines, globulines et glutélines, les pourcentages d'azote des albumines, globulines, glutélines et farines. Pour faciliter l'interprétation des

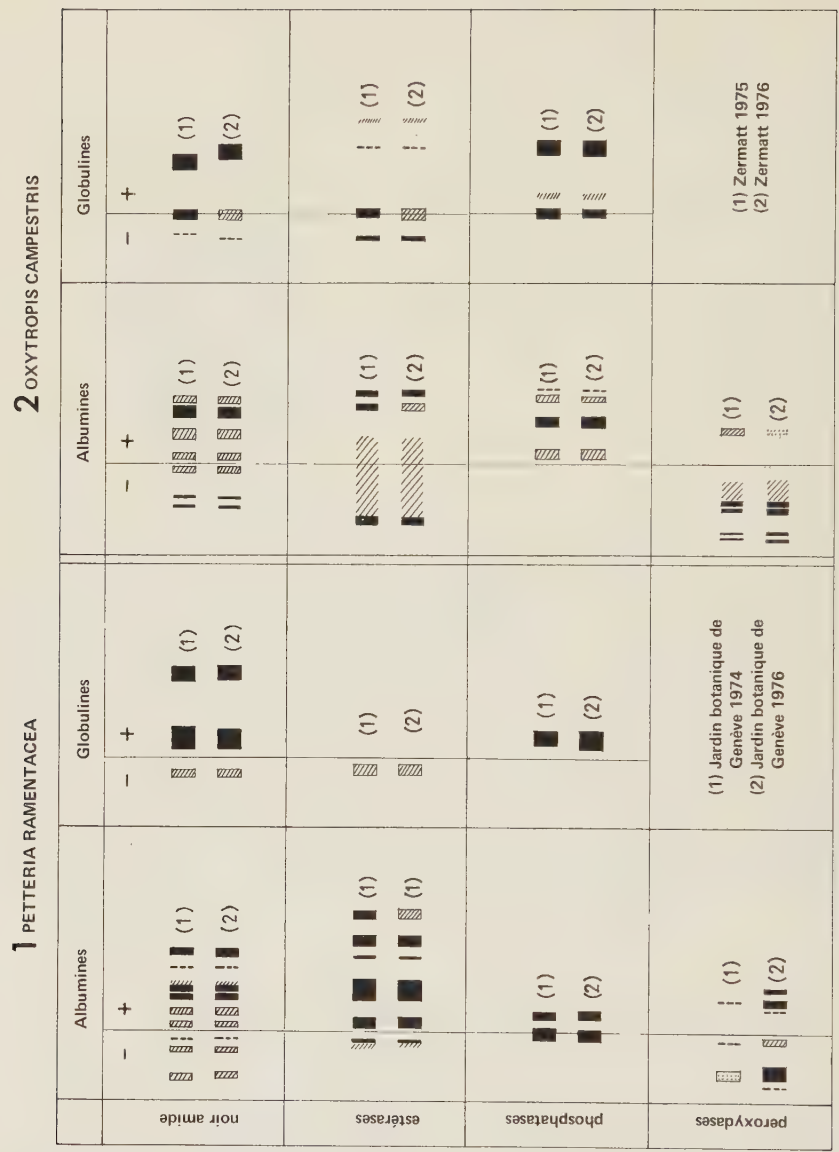


Fig. 1, 2. — Variations dues à l'année de récolte. Protéinogrammes 1, 2.

	Albumines		Globulines		Albumines		Globulines	
	-	+	-	+	-	+	-	+
noir amide	(1) (2)	(1) (2)	(1) (2)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)
estérases	(1) (2)	(1) (2)	(1) (2)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)
phosphatases	(1) (2)	(1) (2)	(1) (2)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)
peroxydases	(1) (2)	(1) Aire-la-Ville 1975 (2) Zermatt 1975	(1) (2)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) (2) (3) (4)	(1) Val Bavona (TI) 1975 (2) Brontallo (TI) 1975 (3) Saint-Jean (VS) 1976 (4) Bords de l'Aire (GE) 1975	(1) (2) (3) (4)

Fig. 3, 4. — Graines récoltées dans diverses stations. Protéinogrammes 1, 2.

5 LATHYRUS SYLVESTRIS

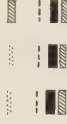
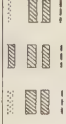
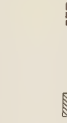
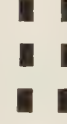
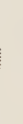
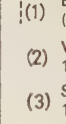
	Albumines		Globulines	
	-	+	-	+
noir amide		 (1)  (2)  (3)		 (1)  (2)  (3)
estérases		 (1)  (2)  (3)	 (1)  (2)  (3)	
phosphatases		 (1)  (2)  (3)		 (1)  (2)  (3)
peroxydases		 (1)  (2)  (3)		 (1) Bords de l'Aire (GE) 1975  (2) Val Maggia (TI) 1975  (3) Sous Salvan (VS) 1975

Fig. 5. — Graines récoltées dans diverses stations. Protéinogramme 3.

données et voir comment s'ordonnent les individus entre eux, il a fallu faire appel à l'ordinateur.

Les résultats sont codés de façon à former une matrice assimilable par l'ordinateur. On applique alors à cette matrice un algorithme de classification, c'est-à-dire que l'on calcule l'indice de similarité qui permettra la constitution des groupes naturels.

Nous avons procédé tout d'abord à une analyse des correspondances. On peut représenter l'ensemble des individus dans un hyper-espace à autant de dimensions qu'il y a de variables analysées. Certaines de ces variables apportent un maximum d'informations nécessaires à l'individualisation des nuages d'individus dans cet hyper-espace, les autres sont négligeables. Il faut donc rechercher les directions principales d'éirement des nuages de points, directions ou axes qui contiendront les variables à plus haut poids informatif, puis voir comment s'organisent les individus par rapport à ces axes. Tel est le but de l'analyse des correspondances. Sans

entrer dans les détails, disons simplement que le premier axe a un taux d'inertie de 0.696, c'est-à-dire qu'il explique 69.6% de l'information contenue dans la matrice. Ce premier axe représente un antagonisme entre le poids sec des globulines et celui des glutélines. Le deuxième axe est un antagonisme entre les poids secs des albumines et une combinaison poids sec des glutélines pourcentage d'azote des albumines, mais il n'explique plus que 25.5% de l'information initiale; les autres axes sont donc négligeables.

Il est important de noter que cette analyse des correspondances établit des groupements d'individus en fonction de variables mais elle ne donne aucune indication de hiérarchisation de ces groupes. Les groupes étant établis, on peut pondérer ces variables en procédant à une analyse discriminante. Il s'agit d'une hiérarchisation des variables en partant de celle qui a le plus haut poids taxonomique, c'est-à-dire celle qui sépare le mieux les nuages d'individus. Cette analyse se déroule en trois temps:

- pondération des variables à partir d'individus de base;
- vérification de la pondération à l'aide d'individus tests;
- allocation des individus anonymes n'ayant pas servi à la première analyse.

Le programme procède pas à pas, c'est-à-dire qu'à partir des groupes pré-établis, la machine va chercher la variable qui, à elle seule donnera le meilleur pourcentage de bon reclassement des individus dans ces groupes. Puis connaissant cette variable, elle va en chercher une deuxième qui, jointe à la première, améliorera le pourcentage de bien classés et ainsi de suite jusqu'à épuisement des variables. Dans cette étude quantitative, la variable la plus importante est le pourcentage d'azote des globulines qui donne 43.14% de bien reclassés. Puis vient le poids sec des glutélines qui fait passer le % de bon reclassement de 43.14 à 76.47%. Au pas numéro 7, l'introduction du poids sec des albumines n'apporte pas d'information supplémentaire. Les 76.47% de bien classés représentent les *Genisteae*, *Phaseoleae* et *Vicieae* parmi les groupes les mieux fournis. Par contre, *Astragaleae*, *Galegeae* et *Trifolieae* ne semblent pas caractérisées par ces variables quantitatives car elles se reclassent mal, même avec la totalité des variables.

Quant au dendrogramme (fig. 6) qui est la visualisation spatiale des groupements naturels établis à partir de la matrice qui a servi pour les analyses précédentes, il permet de faire les mêmes observations. Il est curieux de constater que les *Genisteae* forment deux groupes distincts séparés par la quantité de glutélines et leur pourcentage d'azote qui sont supérieurs chez les espèces du second groupe.

Comme on pouvait s'y attendre, les caractères quantitatifs ne sont pas suffisants dans certains cas pour établir des groupements naturels comparables à ceux établis par les botanistes, mais ils donnent des renseignements intéressants quant à la richesse en protéines des diverses espèces étudiées.

Les résultats de l'étude qualitative vont être nettement meilleurs car les diagrammes électrophorétiques ont une valeur taxonomique supérieure aux caractères quantitatifs.

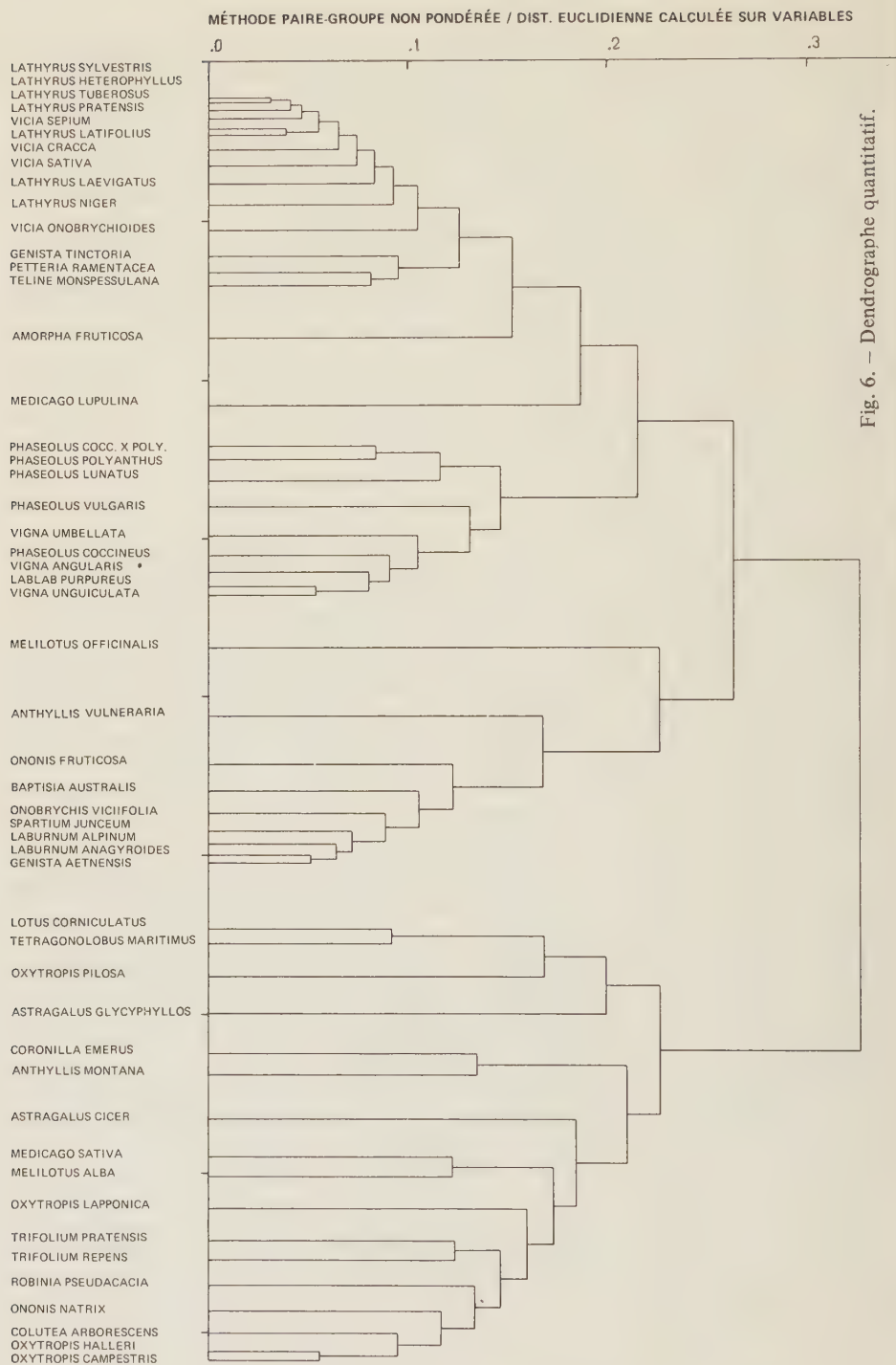


Fig. 6. — Dendrogramme quantitatif.

Etude qualitative

Après avoir éliminé les diagrammes des peroxydases qui ne résistent pas au stockage, nous avons donc comme éléments de comparaison les diagrammes électrophorétiques suivants:

- albumines et globulines totales colorées au noir amide;
- albumines et globulines estérases;
- albumines et globulines phosphatases acides.

Là encore l'intégration de toutes ces bandes est impossible à réaliser sans faire appel à l'informatique. Pour coder convenablement les résultats, les lames d'agarose sont passées sur un densitomètre qui donne l'intensité de chaque bande ainsi que sa distance à l'origine. A partir de cette nouvelle matrice, nous avons pratiqué une analyse discriminante afin de connaître les variables à plus haut poids informatif. Ce sont les albumines noir amide et les albumines estérases qui donnent les meilleurs résultats avec 100% de bien classés pour les albumines noir amide et 98.25% pour les albumines estérases. Les autres diagrammes protéiques donnent des résultats médiocres. Cependant le poids taxonomique des variables diffère selon que l'on considère l'ensemble des 57 espèces, ou chaque groupe pré-établi. Par exemple chez les *Phaseoleae* (fig. 7), les globulines noir amide ont un plus haut poids taxonomique que les albumines noir amide. Il en est de même pour les *Genisteae* (fig. 8) et les *Loteae*. Les *Vicieae* sont caractérisées par les albumines estérases et les globulines estérases.

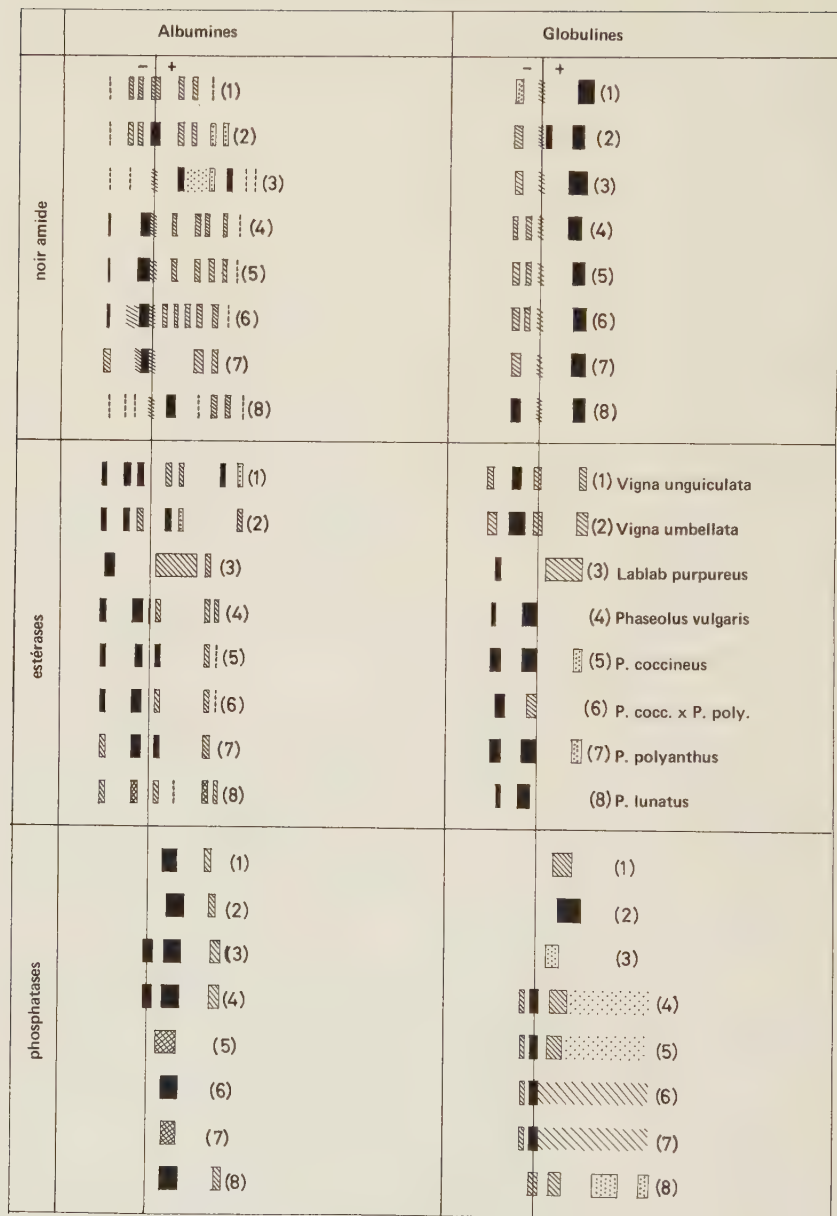
Pour mieux comprendre l'importance des variables qualitatives dans la répartition des 57 espèces en groupes naturels, examinons le dendrographe établi à partir de la matrice qualitative (fig. 9).

Le programme de MAC CAMMON (1970) adapté à l'UNIVAC 1108 permet de calculer les distances euclidiennes séparant les espèces, sur la base de l'ensemble des variables qualitatives. Sur le dendrographe, nous voyons que les 57 espèces se répartissent en 17 sous-groupes, eux-mêmes réunis en 9 groupes naturels. Nous constatons que ces sous-groupes comportent soit les espèces d'un même genre, soit les espèces de genres différents. Cela vient surtout du nombre d'espèces utilisées par genre; là où les espèces sont nombreuses (*Lathyrus*, *Vicia*, *Phaseolus*, *Astragalus* et *Oxytropis*), les sous-groupes représentent les genres, tandis que les autres regroupent plusieurs genres voisins.

Certaines espèces se trouvent isolées, montrant peu d'affinité avec les groupes proches. C'est le cas de *Baptisia australis* et de *Robinia pseudacacia*. Il est aussi intéressant de noter que les genres *Pisum*, *Cicer* et *Lens* représentés par 3 espèces cultivées, sont séparés du groupe des *Lathyrus* et *Vicia* dont toutes les espèces sont sauvages. Cela pose le problème des plantes subissant de nombreuses sélections en vue d'un meilleur rendement des cultures; leur génôme et par conséquent leurs protéinogrammes se trouvent fortement modifiés. Dans quelle mesure peut-on alors comparer des espèces cultivées avec des espèces sauvages?

Ce problème ne se pose pas pour les *Phaseoleae* (*Phaseolus*, *Vigna* et *Lablab*) dont toutes les espèces sont cultivées et proviennent d'une même serre. Ce groupe des *Phaseoleae* est divisé en deux sous-groupes séparant *Vigna* de *Phaseolus*. Leur séparation taxonomique s'appuyait principalement sur la morphologie du style et des stipules. Or ces caractères se sont révélés insuffisants. VERDCOURT (1970)

PHASEOLEAE

Fig. 7. — Protéinogrammes des *Phaseoleae* étudiées.

GENISTEAE

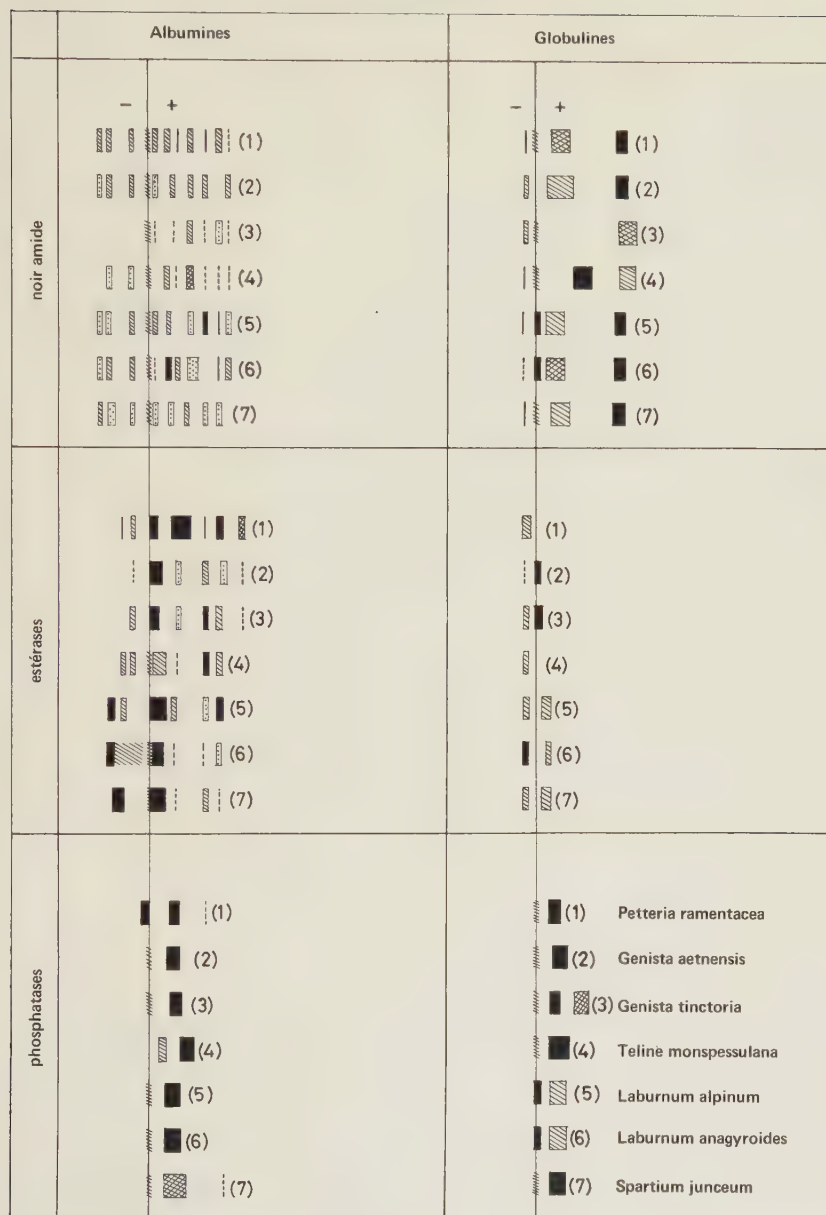
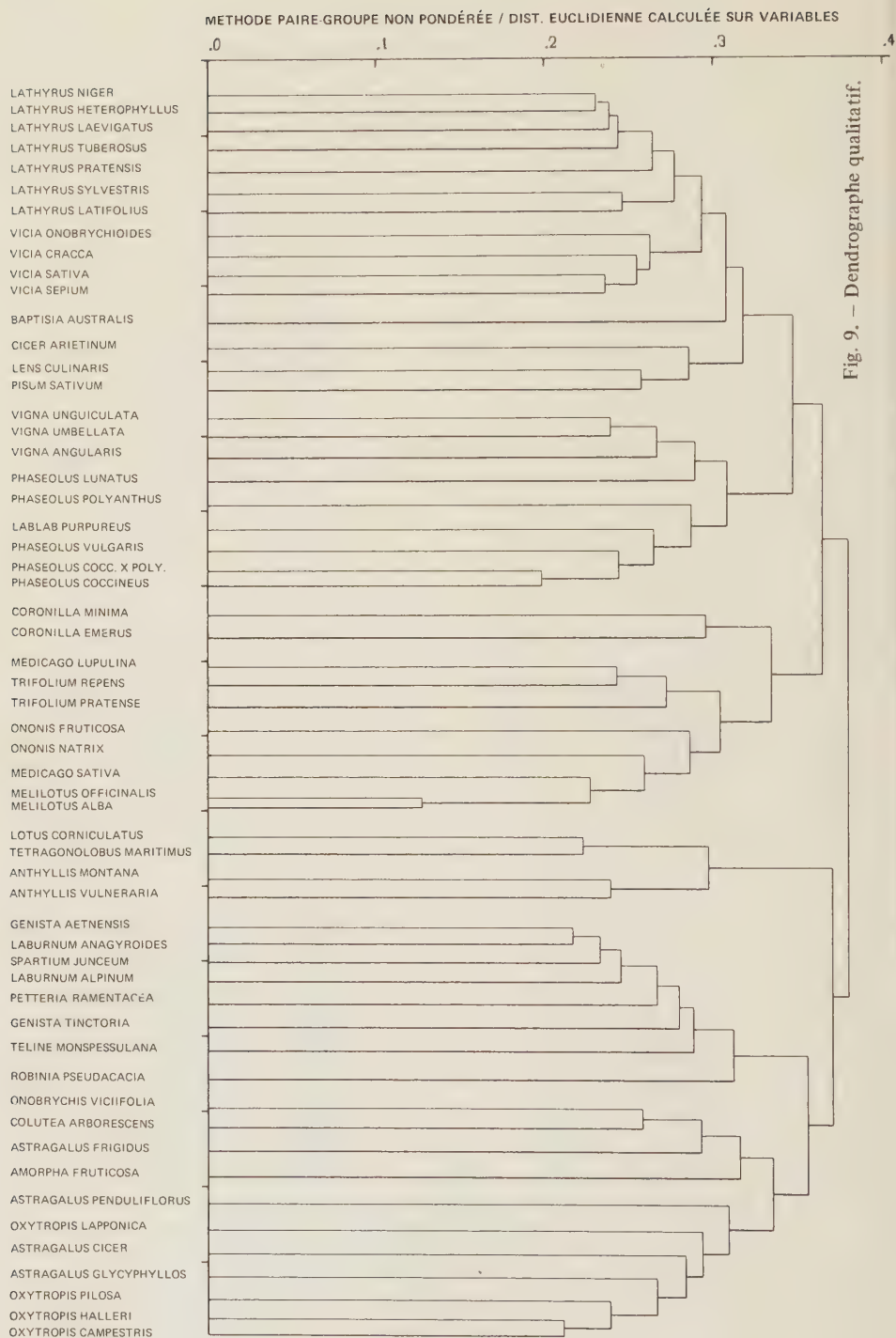


Fig. 8. — Protéinogrammes des *Genisteae* étudiées.



les a complétées en utilisant notamment l'analyse des acides aminés des graines. Nos résultats électrophorétiques semblent bien faire ressortir la séparation de ces deux genres mais il faudrait les étendre à un plus grand nombre d'espèces de chacun d'eux.

Si l'on compare les groupes naturels donnés par le dendrographe avec les classifications classiques, on constate qu'ils correspondent aux tribus des systématiciens.

Quant au groupe des *Genisteae*, scindé en deux dans l'étude quantitative, il apparaît tout à fait homogène ici (effet de chaînage). Il semble donc que cette tribu soit sensible aux caractères employés. BISBY & NICHOLLS (1977) travaillant sur 175 espèces de *Genisteae*, remarquent de même que des changements dans la formulation des caractères provoquent des différences importantes au niveau de la classification de cette tribu.

Nous constatons sur le dendrographe que les deux espèces *aetnensis* et *tinctoria* de *Genista* sont très éloignées l'une de l'autre. CHRISTOFOLINI & CHIAPELLA (1977) ont fait la même constatation en utilisant des méthodes sérologiques. Ils ont cependant proposé des réajustements de classification avec lesquels nous ne sommes pas d'accord.

D'après ces résultats, il ne semble pas nécessaire de suivre la classification de HUTCHINSON (1964) qui divisait en deux tribus (*Laburneae* et *Genisteae*) des espèces qui forment en fait un seul groupe naturel correspondant aux *Genistineae* d'ENGLER (1964). Il en est de même pour le dernier groupe du dendrographe. Pris isolément (fig. 10) on constate que le groupe est subdivisé en 3 sous-groupes:

- l'un réunissant les *Astragalus* et les *Oxytropis*;
- le deuxième avec *Robinia* et *Colutea*;
- le troisième avec *Amorpha* et *Astragalus frigidus*.

Là aussi se pose le problème des espèces uniques; le premier sous-groupe correspond à la sous-tribu des *Astragalinae* d'Engler tandis que les autres représentent les *Robiniinae*, les *Coluteinae* et les *Psoraleinae*. Mais toutes ces espèces font partie du même groupe naturel assimilable aux *Galegeae* (*Astragaleae*) auquel vient s'attacher *Onobrychis viciifolia*, dans le dendrographe général, qui n'a pas pu s'isoler faute d'information suffisante.

Conclusions

D'une façon générale nous voyons que les caractères qualitatifs donnent de bons résultats dans l'élaboration des groupements naturels qui correspondent aux tribus de la systématique classique.

Cette étude met en évidence différents points:

- il faut utiliser plus d'un genre par tribu et même plus d'une espèce par genre surtout en ce qui concerne l'analyse discriminante. Dans le dendrographe, une espèce isolée aura plutôt tendance à s'attacher à un groupe déjà formé qu'à s'isoler à moins de posséder des caractères nettement distinctifs (cas d'*Onobrychis viciifolia*);

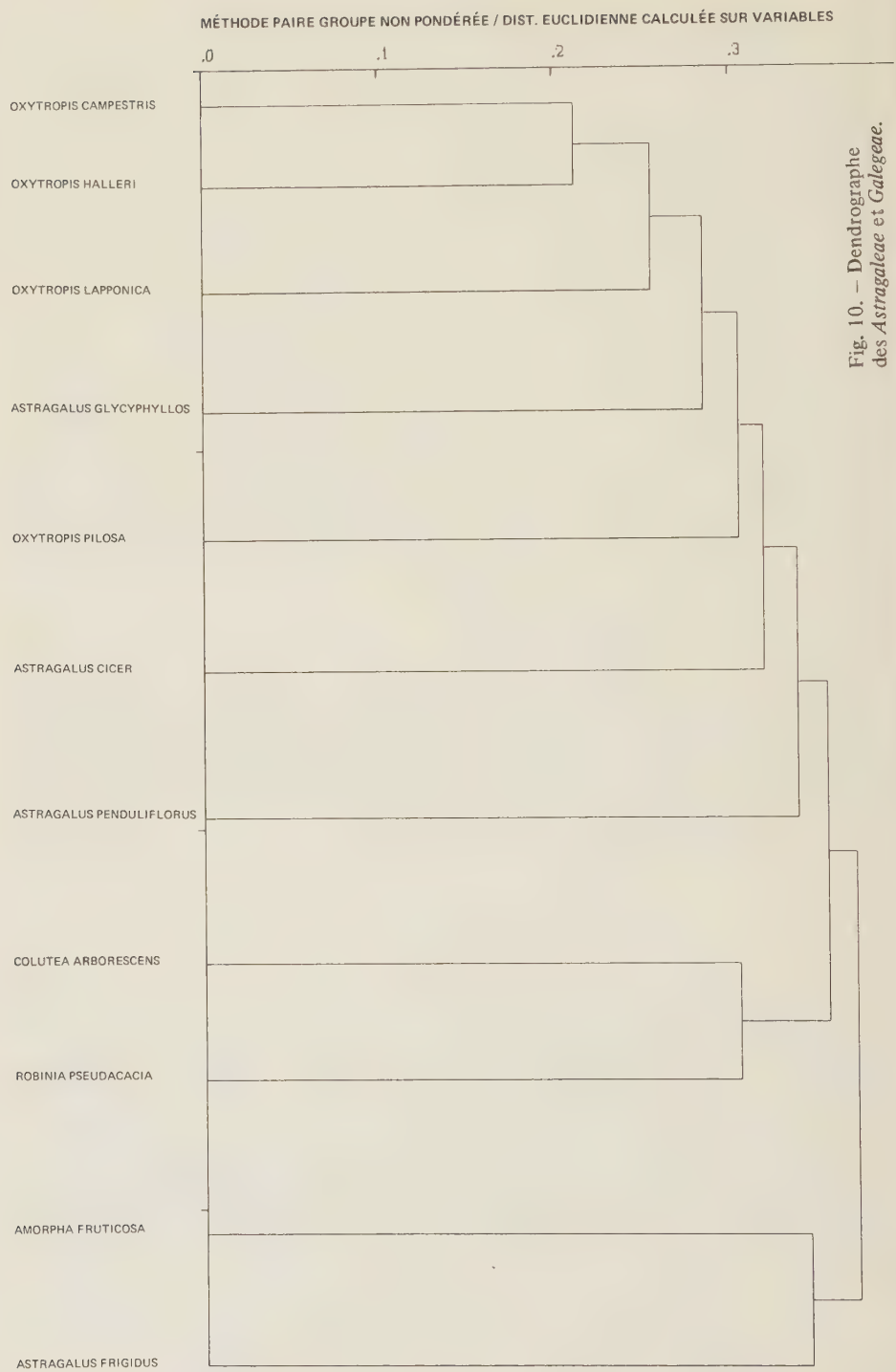


Fig. 10. — Dendrographie
des *Astragaleae* et *Galegeae*.

- il faudrait ne pas mélanger les espèces cultivées avec les sauvages, et éliminer, dans un travail d'ensemble comme celui-ci, les espèces sélectionnées (cas de *Pisum*, *Cicer* et *Lens*);
- il serait très intéressant de se pencher plus à fond sur les tribus hétérogènes, *Astragaleae* (*Galegeae*), *Trifoliae*... ainsi que sur le genre *Genista*;
- la classification établie par HUTCHINSON (1964), accumulant les tribus ne semble pas justifiée. Par contre celle de ENGLER (1964) et celle utilisée dans *Flora europaea* (HEYWOOD & BALL, 1968) sont beaucoup plus proches des groupements naturels.

En conclusion, chez les *Faboideae*, la graine est un excellent matériel d'étude de par sa stabilité physiologique, sa bonne conservation au froid et sa richesse en protéines. Les techniques électrophorétiques sur gel d'agarose sont tout à fait appropriées pour un travail de grande envergure comme celui-ci donnant des résultats reproductibles. Au niveau spécifique et générique on remarque des différences considérables entre les diagrammes protéiques ce qui permet de regrouper les espèces affines et de comparer ces groupes naturels à ceux proposés par les botanistes.

Grâce aux analyses discriminantes, nous avons vu que les variables à plus haut poids taxonomique sont: le pourcentage d'azote des globulines, le poids sec des glutélines et le poids sec des albumines pour le quantitatif et les diagrammes des albumines noir amide et albumines estérases pour le qualitatif. Il suffirait donc de ne connaître que ces valeurs pour attribuer une espèce non identifiée à l'un ou l'autre groupe établi.

Grâce aux résultats obtenus, ce travail ouvre la voie à d'autres recherches plus approfondies dans les domaines suivants:

- au niveau écologique, entre autres, il faudrait pour quelques taxons bien choisir comparer un grand nombre de populations, en connaissant mieux les facteurs du milieu. Pour les plantes présentant une variation au niveau des diagrammes électrophorétiques, comme *Lathyrus sylvestris* et *Lathyrus heterophyllus*, il faudrait les cultiver sous conditions identiques et faire intervenir la cytogénétique;
- il y a le problème des plantes cultivées dont on peut rechercher les espèces parentales sauvages grâce aux diverses techniques électrophorétiques;
- enfin, il ne faut pas oublier un des buts essentiels de ce travail qui est d'apporter des informations supplémentaires sur certains taxons posant des problèmes aux systématiciens, mais cela ne peut se faire qu'en collaboration avec eux.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BISBY, F. A. & K. W. NICHOLLS (1977). Effects of varying characters definitions on classification of Genisteae (Leguminosae). *Bot. J. Linn. Soc.* 74: 97-121.
- CHRISTOFOLINI, G. & L. CHIAPELLA (1977). Serological systematics of the tribe Genisteae (Fabaceae). *Taxon* 26: 43-56.
- COULSON, C. B. & A. K. SIM (1964). Proteins of various species of wheat and closely related genera and their relationships to genetical characteristics. *Nature* 202: 1305-1308.

- ENGLER, A. (1964). *Syllabus der Pflanzenfamilien*, éd. 12, vol. 2: 230-240. Borntraeger, Berlin.
- GOMEZ, K. A. & S. K. DE DATTA (1975). Influence of environment on protein content of rice. *Agron. J.* 67: 565.
- GRANGE, A. (1976). *Effets des conditions de conservation sur la structure et l'activité des protéines des graines de Phaseolus vulgaris (L.) var. contender. Applications taxonomiques*. Thèse no 1759. Université de Genève.
- HEYWOOD, V. H. & P. W. BALL (1968). Leguminosae. In: T. G. TUTIN, V. H. HEYWOOD, N. A. BURGESS, D. M. MOORE, D. H. VALENTINE, S. M. WALTERS & D. A. WEBB (éds.), *Flora europaea* 2: 80-191. University Press, Cambridge.
- HUTCHINSON, J. (1964). *The genera of flowering plants*, 1. Clarendon Press, Oxford.
- KLOZ, J., V. TURKOVA & E. KLOZOVA (1960). Serological investigation of taxonomic specificity of proteins in various plant organs in some taxons of the family Viciaceae. *Biol. Pl.* 2: 126-137.
- LADIZINSKY, G. & A. ADLER (1974). The origin of Cicer as indicated by seed protein electrophoresis. *Israel J. Bot.* 24: 183.
- MAC CAMMON, R. B. & G. WENNINGER (1970). *The dendrograph. Computer contribution* 48. D. F. Merriam (ed.) Kansas University, Lawrence (USA).
- MIÈGE, J. (éd.) (1975a). *Les protéines des graines*. Georg, Genève.
- (1975b). Contribution à l'étude du genre *Adansonia* L. III. Intérêt taxonomique de l'examen électrophorétique des protéines des graines. *Boissiera* 24: 345-352.
- MIÈGE, M.-N. (1970). Etude des protéines des graines d'une Légumineuse: *Lablab niger* Medik. *Arch. Sci.* 23: 75-150.
- (1975). Chimie taxonomique: analyse critique de l'utilisation des caractères biochimiques des protéines des graines. Exemple de variabilité d'origine technique apporté par une étude cinétique de la dialyse. *Saussurea* 6: 153-169.
- SMITH, P. M. (1976). *The chemotaxonomy of plants*. Arnold, Bristol.
- SPIERER-ROYER, A. (1975). *Les protéines de la graine de Vigna unguiculata. Inhibiteurs anti-trypsine et enzymes protéolytiques. Applications à la valeur alimentaire et à la taxonomie du Vigna*. Thèse no 1719. Université de Genève.
- VERDCOURT, B. (1970). Studies in the Leguminosae-Papilionoideae for the Flora of Tropical East Africa, I, II, III, IV. *Kew Bull.* 24: 1-70, 253-307, 380-447, 507-569.
- WOOLFE, J. A. & J. HAMBLIN (1974). Within and between genotypes variation in crude protein content of *Phaseolus vulgaris* L. *Euphytica* 23: 121-128.

